

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie

Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

Volumetrische Untersuchungen an Stützzellkernen O - 2

Tage alter Wistarratten; ein Beitrag zur Stützzellkinetik
während der Evolution der T_1 - Prospermatogonien.

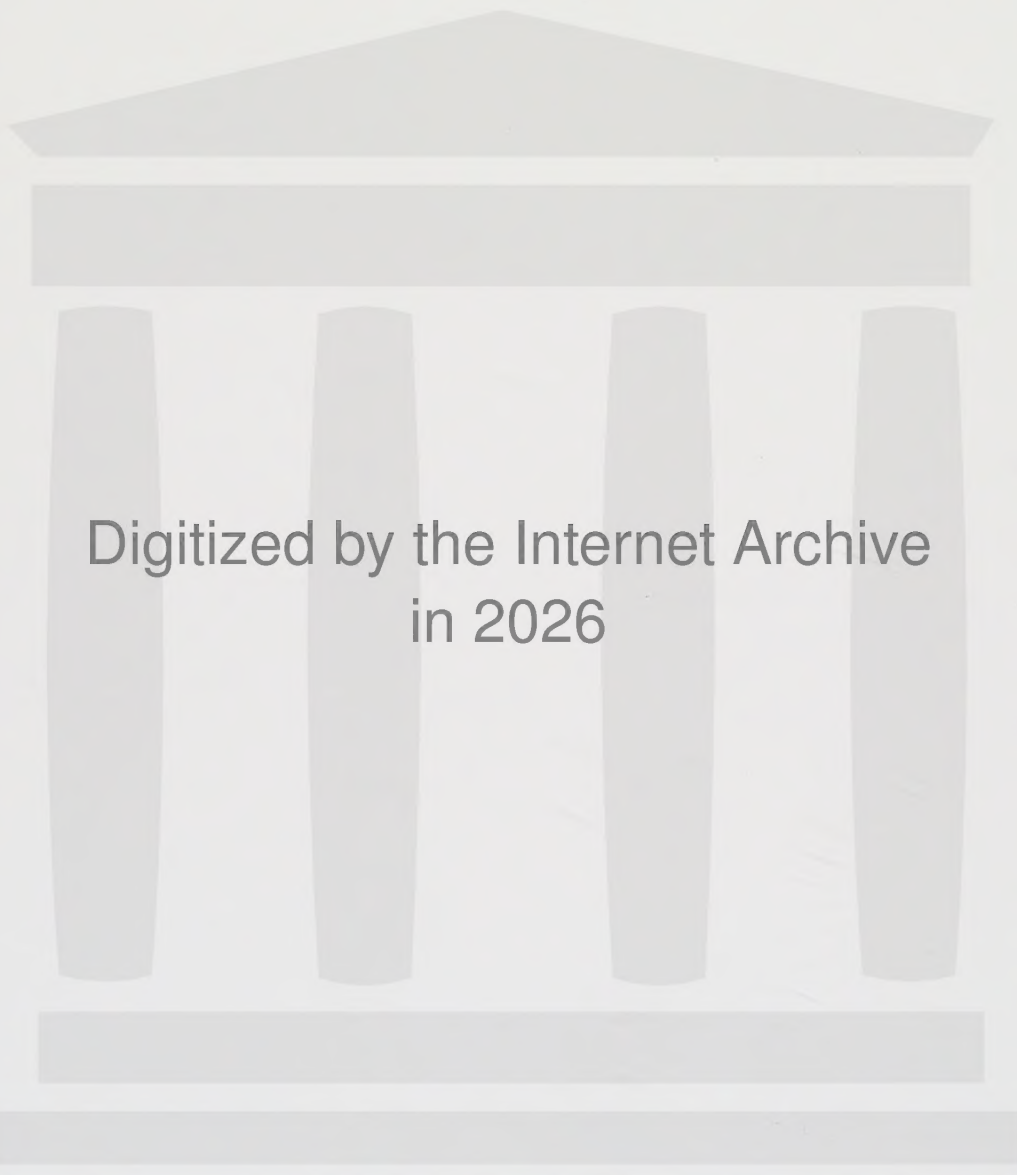
DISSERTATION

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Beatrice Henk

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548220_0028

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie

Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

Volumetrische Untersuchungen an Stützzellkernen 0 - 2
Tage alter Wistarratten; ein Beitrag zur Stützzellkinetik
während der Evolution der T_1 - Prospermatogonien.

D I S S E R T A T I O N

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Beatrice Henk



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez: Prof. Dr. Krüskemper

Referent
gez: Prof. Dr. Hilscher
Korreferent
gez: Prof. Dr. Hofmann

E I N L E I T U N G

Die in Zusammenhang mit Doppelmarkierungsversuchen von Kaiser 1977 vorgenommenen volumetrischen Untersuchungen an den Stützzellkernen 0 bis 2 Tage alter Wistarratten hatten das Ziel, die Frage zu beantworten, ob die Stützzellkerne in unterschiedlichen Phasen ihres Zell - Zyklus (G_1 - Phase, S- Phase, G_2 - Phase) faßbare Unterschiede ihrer Durchmesser und damit ihres Kernvolumens zeigen.

Anhand der gewonnenen Daten sollte festgestellt werden, ob es unerläßlich ist, bei der Bestimmung der S- Phasen - Dauer einer Zellkategorie die Kerngröße zu berücksichtigen.

M A T E R I A L U N D M E T H O D I K

Die Untersuchung wurde an 0, 1 und 2 Tage alten Jungratten von insgesamt 3 Muttertieren durchgeführt.

Um die Jungtiere zu bekommen, waren zwei Männchen, fünf Monate oder ein Jahr alt, zur Paarung über Nacht in einen Käfig zu zwei bis sechs gleichalten Weibchen einer im Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung selbstgezogenen Inzuchtlinie (Wistar - W.U., Müller-Haan) gesetzt worden. Am folgenden Tag zwischen 8,00 und 9,00 Uhr waren die Weibchen mit einem Vaginalpfropf oder mit Spermien im Scheidenabstrich in Einzelkäfige gebracht worden. Der Tag, an dem der Vaginalpfropf oder die Spermien nachgewiesen worden waren, wurde als erster Tag der Trächtigkeit (Tag 1 post conceptionem, abgekürzt Tag 1 p.c.) bezeichnet.

Zwei männliche Jungtiere des 1. Wurfes erhielten unmittelbar nach der Geburt, drei männliche Jungtiere des 2. Wurfes 24 Stunden nach der Geburt und drei Jungtiere des 3. Wurfes 48 Stunden nach der Geburt jeweils eine erste "schwache" i.p. Injektion mit ^3H -Thymidin (2mC ^3H -Thymidin / g Ratte).

Vier Stunden nach dieser ersten Injektion erhielten die Tiere jeweils eine zweite "starke" i.p. Injektion mit einer zehnmal höheren Dosis ^3H -Thymidin (20 mC ^3H -Thymidin / g Ratte spez. Aktivität 15.000 mC/ Mol).

Eine Stunde nach dieser zweiten Injektion wurden die Tiere getötet, beide Gonaden wurden exstirpiert und 24 Stunden lang in Bouinscher Lösung fixiert und danach in Paraplast eingebettet. Es wurden 5 μm dicke Schnitte hergestellt, die zunächst mit Hämalaun gefärbt wurden.

An der jeweils besser geschnittenen und gefärbten Gonade der Jungtiere erfolgte dann die Auswertung. Zunächst wurden Übersichtsfotografien der Gonaden angefertigt. Diese Übersichts-schnitte erhielten eine Nummer.

Danach wurden möglichst runde Keimstrangquerschnitte in den Übersichtsaufnahmen ausgesucht und in den Schnitten aufgesucht, die dann fotografiert (Okular 10 x Objektiv 63 x) und numeriert wurden. Schließlich wurden mindestens 1. 000 in diesen Keimstrangsnitten gut getroffene Stützzellkerne pro Tier numeriert, in Formblättern registriert und gemessen. Gemessen wurde sowohl der Längs- als auch der Querdurchmesser der Kerne. Die Messungen wurden mit dem elektronischen Mikrolängenmeßgerät Wild-Tesa durchgeführt. Bei der Handhabung des Gerätes konnte davon ausgegangen werden, daß es zu 0,5 um genau mißt.

Nach diesem Arbeitsschritt wurde das Deckglas und das Einbettungsmedium in erwärmtem Xylol entfernt. Danach wurden die Autoradiogramme hergestellt; es wurde der Strippingfilm AR 10 von Kodack, London, verwandt.

Anhand der vorliegenden Autoradiogramme wurde durch Herrn Kaiser bestimmt, welche der Stützzellen "schwach" ^3H -markiert und "stark" ^3H -markiert waren.

Insgesamt wurden die männlichen Gonaden von

2 Jungtieren des	(Lebenstag 0,
Muttertieres I	Injektionsintervall 4 Stunden)

3 Jungtieren des	(Lebenstag 1,
Muttertieres II	Injektionsintervall 4 Stunden)

3 Jungtieren des	(Lebenstag 2,
Muttertieres III	Injektionsintervall 4 Stunden)

ausgewertet.

R E S U L T A T E

Tabellen 1 bis 3

Die Tabellen 1, 2, 3 enthalten die Ergebnisse der Auswertungen, das heißt die Daten, die anhand der Messungen der Stützzellkerne und der Bestimmungen ihrer Markierungen durch Kaiser (1976) gewonnen wurden. Sämtliche Tabellen sind nach dem gleichen Prinzip angelegt.

Spalte 1 enthält die Art der Markierung,
Spalte 2 die Anzahl der ausgewerteten Zellen
(genauer der ausgewerteten Kerne), Spalte 3
die anhand der Kerngröße und der Schnittdicke
aus diesen Zahlen ("crude counts") errechnete,
Spalte 4 die Relation zwischen gezählten
Stützzellkernen (crude counts) und berechneter
"wahrer" Anzahl der Stützzellkerne ("true counts"),
Spalte 5 die Mittelwerte der Relation von großem
(a) und kleinem (b) Durchmesser der Stützzellkerne,
Spalte 6 - vorausgesetzt die Stützzellkerne seien
Rotationsellipsoide und in der Hauptebene getroffen -

die nach der Formel

$$V = \frac{\pi}{6} \cdot a \cdot b \cdot b$$

berechneten Mittelwerte für die Ellipsoidvolumina, Spalte 7 - vorausgesetzt die Stützzellkerne seien Kugeln und in der Hauptebene getroffen - die nach der Formel

$$V = \frac{\pi}{6} \cdot D \cdot D \cdot D,$$

(wobei $D = a + b$ ist) berechneten Mittelwerte der Kugelvolumina, Spalte 8 die Mittelwerte für die "wahren" Kugelvolumina ohne Ausgleich und Spalte 9 die Mittelwerte für die "wahren" Kugelvolumina mit Ausgleich.

Die Tabellen 1 bis 3 enthalten die Ergebnisse der kernvolumertisch-autoradiographischen Untersuchungen an den Stützzellen in den Gonaden der Jungtiere.

Die Tabelle 1 enthält die Daten über die Stützzellkerne der zwei Jungtiere des Muttertieres I, Tabelle 2 die Daten über die Stützzellkerne der drei Jungtiere des Muttertieres II und Tabelle 3 die Daten über die Stützzellkerne der drei Jungtiere des Muttertieres III.

Das Injektionsintervall zwischen der ersten Injektion mit "schwach" ^3H -Thymidin und der zweiten Injektion mit der um 10 mal höheren Dosis "stark" ^3H -Thymidin betrug bei sämtlichen 8 Jungtieren 4 Stunden.

Die in den Tabellen enthaltenen Daten lassen erkennen:

1. Die Mittelwerte der Relation von großem und kleinem Durchmesser der Stützzellkerne liegen bei allen Jungtieren in der gleichen Größenordnung.

2. Die meisten Stützzellkerne (etwa zwei Drittel aller Kerne) sind unmarkiert, es folgen die "stark" ^3H -markierten Stützzellkerne (etwa ein Viertel aller Kerne) und schließlich die "schwach" ^3H -markierten Stützzellkerne (etwa ein Zehntel aller Kerne).

3. Die unmarkierten Stützzellkerne sind deutlich kleiner als die "schwach" ^3H -markierten Kerne und diese wiederum bis auf eine Ausnahme (Tier 2) deutlich kleiner als die "stark" ^3H -markierten Kerne.

Diese Aussage ist unabhängig davon, ob das Volumen nach der Formel für Rotationsellipsoide bestimmt wurde oder für Kugeln.

Die Tabelle 4 enthält die Werte für die Stützzellkerne in den Gonaden der Jungtiere der Muttertiere I,II und III. Spalte 1 gibt die Lebensstage an, Spalte 2 die Anzahl der unmarkierten, Spalte 3 die Anzahl der "schwach" ^3H -markierten und Spalte 4 die Zahl der "stark" ^3H -markierten Stützzellen.

Da es sich bei den "stark" ^3H -markierten Stützzellkernen um Kerne handelt, die sich in der S-Phase befinden (vergleiche Figur I), gibt ihr Promille- beziehungsweise Prozentsatz den Markierungs-Index an. Denn der Markierungs-Index ist als Prozentsatz der in der S-Phase markierten Kerne, bezogen auf alle Kerne innerhalb einer Zellart, definiert. Er liegt bei den einzelnen Jungtieren zwischen 21,4 % und 28,8 %.

In den Spalten 5 und 6 der Tabelle 4 sind die Anzahl der "schwach" ^3H und "stark" ^3H -markierten Stützzellkerne eingetragen und in Spalte 7 die nach der Formel in Figur 1 berechneten Werte für die S-Phasen-Dauer S-gezählt pro Tier.

Spalte 8 enthält schließlich die entsprechenden Werte für die S-Phasen Dauer-S-"wahr", die anhand der vorliegenden kernvolumetrischen- autoradiographischen Daten berechnet wurden.

Die Werte für S-gezählt der Stützzellkerne in Spalte 7a der Tabelle 4 liegen bei ca. 11,5 Stunden.

Die Werte für S-"wahr" in Spalte 8a der Tabelle 4 liegen bei ca. 11 Stunden.

Die jeweiligen Mittelwerte für S-gezählt und S-"wahr" sind in Spalte 7b und 8b der Tabelle 4 eingetragen.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird über kernvolumetrische Untersuchungen an den Stützzellen von acht männlichen Jungtieren berichtet.

Alle acht Jungtiere hatten eine erste Injektion einer "schwachen" Dosis ^3H -Thymidin und eine zweite Injektion einer um zehnmal höheren "starken" Dosis ^3H -Thymidin erhalten.

Das Injektionsintervall hatte vier Stunden betragen. Eine Stunde nach der zweiten Injektion waren die Tiere getötet worden.

Die vorliegenden kernvolumetrischen Untersuchungen haben zusammen mit den von Kaiser (1976) durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen gezeigt, daß die Stützzellen in unterschiedlichen Phasen ihres Zellzyklus beziehungsweise ihrer Generationszeit deutlich faßbare Größenunterschiede ihrer Kerne aufweisen.

Im einzelnen konnte gezeigt werden:

Insgesamt liegt bei den Jungtieren 1 - 8 mit einer Ausnahme der Mittelwert des Radius r der unmarkierten Kerne am niedrigsten, r der "stark" ^3H -markierten Kerne am höchsten.

In der Diskussion wird auf die von Kaiser (1976) in Zusammenhang mit den vorliegenden Resultaten der kernvolumetrischen Bestimmungen durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen eingegangen und die in dieser Dissertationsarbeit niedergelegten Resultate diskutiert.

Tabelle 1

Markierung	Zellzahl gezählt	"wahr"	Relation	Mittelwert	Volumenmittelwerte (u ³)	
			<u>gezählt"</u>	<u>große Achse</u>	Ellipsoid	Kugel
			"wahr"	kleine Achse		
Tier 1 = 0. Lebenstag						
4 h - Intervall						
unmarkiert	668	286	2,33	1,47	90,28	107,03
schwach ³ H	70	29	2,41	1,54	108,35	130,09
stark ³ H	216	84	2,57	1,50	134,06	160,34
Tier 2 = 0. Lebenstag						
4 h - Intervall						
unmarkiert	651	279	2,33	1,52	88,74	106,57
schwach ³ H	83	33	2,51	1,44	120,89	143,54
stark ³ H	272	109	2,49	1,49	119,77	142,37

Tabella 2

Markierung	gezählt	Zellzahl	Relation <u>gezählt"</u> "wahr"	Mittelwert <u>große Achse</u> kleine Achse	Volumenmittelwerte (u ³) Ellipsoid Kugel
Tier 3 = 1. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	299	130	2,30	1,43	82,84
schwach ³ H	39	17	2,29	1,54	91,88
stark ³ H	105	43	2,44	1,60	106,57
Tier 4 = 1. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	601	261	2,30	1,47	86,55
schwach ³ H	111	46	2,41	1,42	108,55
stark ³ H	288	117	2,46	1,45	123,03
Tier 5 = 1. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	539	241	2,24	1,47	77,77
schwach ³ H	103	45	2,29	1,51	90,95
stark ³ H	256	104	2,46	1,46	121,01
					91,43
					108,50
					140,85

Tabelle 3

Markierung	gezählt	Zellzahl	Relation <u>gezählt</u> " "wahr"	Mittelwert große Achse kleine Achse	Volumenmittelwerte (u ³) Ellipsoid Kugel
Tier 6 = 2. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	694	295	2,35	1,47	95,90 113,38
schwach ³ H	69	29	2,38	1,45	111,20 129,54
stark ³ H	212	84	2,52	1,48	132,75 156,93
Tier 7 = 2. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	671	293	2,29	1,46	84,86 99,57
schwach ³ H	77	33	2,33	1,45	101,51 118,76
stark ³ H	204	83	2,46	1,50	115,63 137,10
Tier 8 = 2. Lebenstag					
4 h - Intervall					
unmarkiert	690	303	2,28	1,48	79,36 94,64
schwach ³ H	68	28	2,43	1,59	106,57 129,76
stark ³ H	220	88	2,50	1,45	126,37 149,05

Tabelle 4

Lebens- tage	1.000 Stützzellen		1.000 markierte Stützzellen		S - Phase	
	unmarkiert ^3H	"schwach" ^3H	"stark" ^3H	"schwach" "stark"	gezählt Mittelwert	"wahr" Mittelwert
0	701	73	226	244 756	a 12,38	a 11,59
	647	83	270	235 765	b 12,70 13,01	b 12,40 13,21
1	675	88	237	271 729	10,77	10,12
	601	111	288	278 722	10,38	10,17
2	600	115	285	288 712	9,91	9,24
	712	71	217	247 753	12,23	11,57
	705	81	214	275 725	10,56	10,06
	705	70	225	237 763	12,86	12,57
					11,88	11,40

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Kaiser, K.:

BEITRÄGE ZUR KINETIK DER STÜTZZELLEN WÄHREND DER
EVOLUTION DER T_1 -PROSPERMATOGONIEN;
AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHERUNGEN AN DEN
KEIMSTRÄNGEN VON WISTARRATTEN

Inaug. Diss., Düsseldorf 1976

LEBENS LAUF

9. 3. 1949 in Heidelberg

Vater: Dr. med. Richard Henk, Arzt

Mutter: Gertrud Henk geb. Roos

1955 - 1959 Besuch der Wilckenschule Heidelberg

1959 - 1965 Besuch des Kurfürst-Friedrich-Gymnasiums Heidelberg

1965 - 1968 Besuch des Aufbaugymnasiums Bensheim

1968 Abitur am Aufbaugymnasium Bensheim

1969 - 1971 Medizinstudium Universität Heidelberg Physikum

1971 - 1973 Medizinstudium Universität Düsseldorf

1973 - 1974 Medizinstudium Universität Heidelberg

1974 Staatsexamen

1975 Krankenhaus Weinheim MA - Innere, Chirurgie

1976 Krankenhaus Mühlacker MA - Innere

1976 - 1979 Herz-Jesu-Krankenhaus Fulda Assistenzärztin Innere

